中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）47(4)：408～418（1998）

# 蓮霧汁生產細菌纖維素之研究[1]

楊淑惠[2]

摘要：細菌纖維素(bacterial cellulose)為利用木質醋酸菌(*Acetobacter xylinum*)發酵椰水或果汁所產生的二次代謝產物，常添加於市售果凍中或添加於冰淇淋等相關產品中，做為懸浮劑或調稠劑增加產品的咀嚼性及保水性、保形性。本實驗以採收後期的蓮霧為原料，探討以蓮霧汁生產細菌纖維素之可行性及經發酵後培養基質之成分變化。實驗結果顯示，以蓮霧汁生產細菌纖維素的產量約為 31%，經接菌發酵後培養基質中的可滴定酸度由 0.21%上升為 0.98%，蘋果酸的變化不明顯，檸檬酸、琥珀酸、葡萄糖酸及醋酸則大都呈上升趨勢，醋酸為木質醋酸菌發酵後產生的另一項二次代謝物，其含量隨著發酵時間的延長先由無增加至 0.37%，而後明顯減少為 0.04%。發酵期間對醣類的利用率(7.0%)並不高，但轉換率為 91.3%，比例頗高。

**關鍵詞**：蓮霧汁、細菌纖維素、基質成分。

## 前　　言

細菌纖維素(bacterial cellulose)為培養木質醋酸菌於含有機酸及糖類的椰水或果汁中，經發酵在培養液表面所形成乳白色的二次代謝產物，不溶於水、堅韌的凝膠狀，其厚度可達數公分的纖維質[1,7,8]。一般稱為椰果(nata)、那塔或那大等[1,2]，細菌纖維素是由 0.9% 纖維素、0.3%結合水及 98.8% 自由水所構成[14]。普遍添加於市售果凍中，用以增加其咀嚼性，或添加於冰淇淋等相關產品中，增加產品的平滑質地、保水性及保形性，防止冰淇淋在融解後變形；工業用途則可製成包括醫用材料、造紙、玻璃纖維濾片及擴音器的震動膜等[5,6,17]。東南亞國家如泰國、印尼、菲律賓等地區，因盛產椰子、氣候適宜、成本低而成為細菌纖維素的主要產區[7,8,12,14]。台灣雖然椰子產量不多，但四季各式水果豐盛，在高品質果實出售至市場後，留在果園內的常常是大量的格外品及採收後期品質不良的果實，這些產品因售價不敷運銷成本，常有任其棄置於田間或掛在樹上不採收的情形。以蓮霧為例，其棄置量可能佔總產量的三分之一左右，如果加上天候等因素造成的落果，廢棄量將更大。為增加省產水果的利用性，本實驗擬以採收後期的蓮霧為原料，探討以蓮霧汁生產細菌纖維素之可行性，並探討其培養基質之成分變化，以做為日後增加生產量之參考。

## 材料與方法

### 一、實驗材料

㈠菌株

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1962 號。

2. 本所鳳山熱帶園藝試驗所分所助理。臺灣省　高雄縣　鳳山市。

木質醋酸菌 *Acetobacter xylinum* Axy1220，由加拿食品企業有限公司提供。

(二)藥品

1.木質醋酸菌培養基如 yeast extract、agar 等均購自美國 Difco 公司。

2. 一般化學藥品均購自德國 Merck 公司。

3. 高效液相層析之標準品

a.糖類標準品如果糖、葡萄糖及蔗糖等均購自美國 Sigma 公司。

b.有機酸標準品如蘋果酸、檸檬酸及醋酸等則分別購自 Sigma、Merck 公司。

## 二、實驗方法

(一)原料採收與前處理

分別採收屏東縣枋山及高雄縣六龜地區的後期蓮霧果實(*Syzygium samarangense*)，經打汁、分裝後，冷凍備用。

(二)菌元製備

取發酵後之底層母液， 塗抹於 YPG 固體培養( polypeptone 20 g，yeast extract 10 g ，glucose 20 g，agar 15%，稀釋至 1 公升，pH 6.6-7.0)，在 30℃恆溫箱中培養 24-28 小時，待長出菌落後，挑單一菌株於 YPG 液體培養基內， 再放入 30℃恆溫箱中振盪培養 2-3 天，作爲發酵之菌元。

(三)培養基質之製備

1. 蓮霧原汁培養基

取出分裝之冷凍蓮霧汁，經解凍、靜置後，取上層澄清液，加熱至沸騰，趁熱分別裝入培養容器內放冷。

2. 修飾培養基

澄清蓮霧汁添加 5%蔗糖、0.5%磷酸二氫銨及 0.1%醋酸，加熱至沸騰，趁熱分別裝入培養容器內放冷。

(四)發酵方法

依 Okiyama 等人[14]所提之二階段發酵法，經修飾後使用。菌株先經活化，接入 YPG 培養基中振盪培養二天後，取 10%(v/v)更新培養之菌液，接入蓮霧汁及修飾培養基質，並於 30℃培養箱中，繼續進行靜置培養 15 天。容器爲耐高溫的透明塑膠材質，大小爲長 ×寬× 高爲 6.0 ×7.0 ×10.0 公分。

(五)蔗糖水解率、總糖利用率及轉換率計算

經 HPLC 測定發酵液中果糖、葡萄糖及蔗糖之濃度，然後參考 Embusdado 等人[10]之公式計算。

1. 蔗糖水解率：蔗糖水解率(%)＝(發酵前蔗糖濃度－發酵最終蔗糖濃度) /發酵前蔗糖濃度×100

2. 總糖利用率：總糖利用率(%)＝(發酵前總糖濃度－發酵最終總糖濃度) / 發酵前總糖濃度×100

3. 醣類轉換率：醣類轉換率(%)＝發酵最終之細菌纖維素乾重 / (發酵前總糖濃度－發酵最終總糖濃度)×100

(六)細菌纖維素產量測定

依 Yamanaka 等人[17]之研究方法，取出細菌纖維素膜，以流動水漂洗 12 小時，置於不銹鋼架上滴水 30 分鐘，秤量，此即爲細菌纖維素膜之濕重；將此細菌纖維素膜放入已恆重之鋁盤上，於 105℃烘箱，烘乾至恆重，此即爲細菌纖維素膜之乾重，乾、濕重均以 g/150 ml 表示。

(七)發酵液之成分分析

1.有機酸含量測定[9]：樣品經 12,000 rpm 離心 10 分鐘，上層澄清液以 0.45μl 濾膜過濾。取 20μ

μl 樣品，注入 HITACHI 高效液相層析儀進行分析，分離管爲 Bio-Rad Aminex-HPX87H，分離管加溫器設定 40℃，偵測器爲 UV detector 波長 210 nm，移動相 0.01 N $H_2SO_4$，流速 0.6 ml/min.。

2. 糖質含量分析[9]：樣品製備同上 1 (1)之操作。分析儀器設定，偵測器爲 RI detector，其他同上 1 (2)之設定與操作。
3. pH 値測定：取適量發酵基質於室溫下測定。
4. 可滴定酸度測定(Titratable acidity)：取適量發酵基質，加入適當比例之蒸餾水，以 0.1N NaOH 滴定至 pH 8.1，以檸檬酸(%)計算。
5. 水份：精秤約 10g 新鮮樣品在 105℃下乾燥過夜，秤至恆量，以乾燥前後重量差異計算水份含量。
6. 粗蛋白質：精秤 2.0 g 新鮮樣本以 Semi-micro Kjeldahl 方法測定，氮含量以N%*6.25 表示之。
7. 粗脂肪：精秤 10 g 新鮮樣本以 Soxhlet 裝置，以乙醚抽取 16 小時後測定。
8. 粗纖維：精秤 10 g 之新鮮樣本，依 CNS 食品中粗纖維含量測定法測定。
9. 灰份：精秤新鮮樣品 10g，依據 CNS 水果及蔬菜汁飲料檢驗法測定。
10. 碳水化合物：以 100%減去水份、粗蛋白質、粗脂肪、粗纖維及灰份所得之值。
11. 抗壞血酸：取新鮮樣本 2.0 g 依 A.O.A.C.方法中之 2.6-Dichlorophenol-indophenol 指示劑滴定法測定。
14. 不溶固形物：參考 CNS 水果及蔬菜汁飲料檢驗法，精秤 10g 打汁樣品，放入 600ml 燒杯中，加去離子水至 200g 後，煮沸 30 分鐘，以已乾燥秤量之 Whatman No.41 濾紙過濾，再用熱水充分洗滌後，在 105℃烘乾過夜，測定濾紙增加之重量，即不溶固形物。

## 結　果

### 一、新鮮蓮霧汁之一般組成分

本實驗所使用之蓮霧材料爲冬季、採收後期的果實，品質略底於盛產期果實。蓮霧汁之可溶性固形物含量約 7.6-8.6 °Brix，pH 3.9- 4.3 左右，此含量與商業生產以椰乳生產椰果時，需將椰乳的可溶性固形物含量由 5.5 °Brix 調糖至 10 °Brix，並將 pH 値由 5.0 調酸至 3.6 的處理方式(何,1996)，蓮霧汁顯然頗爲適合作爲木質醋酸菌發酵生產細菌纖維素的基質(表 1)。蓮霧之可滴定酸度約在 0.21-0.24 %左右，醣類總含量約爲 6.55 %，以果糖(3.53 %)含量較高，葡萄糖(2.72 %)及蔗糖(0.3 %)含量次之。有機酸類總含量約爲 0.72 %左右，以琥珀酸含量 0.56 %爲主，檸檬酸(0.16 %)、蘋果酸(0.06 g%)等次之。其他一般成分包括粗蛋白質含量約 0.35 %，灰分含量 0.2 %，抗壞血酸含量約 4.5-5.5 mg %及不溶性固形物含量 0.30 %左右(表 2)。

**表 1.** 椰乳生產細菌纖維素所需之發酵基質與蓮霧汁、柑桔汁可溶性固形物及 pH 值之比較

**Table 1.** Comparison the soluble solid and pH value of coconut medium with wax-apple juice and citrus juice.

| Fermented substrate | Total soluble solid (TSS)(°Brix) | pH value |
|---|---|---|
| Coconut milk(commercial) | 5.5(dilute coconut milk) | 5.0 (dilute coconut milk) |
| | ↓ made | ↓ made |
| | 10.0 | 3.6 |
| Wax-apple juice | 7.8- 8.7 | 3.5-4.3 |
| Citrus juice | 10.0-10.5 | 3.9 |
| Valencia juice | 11.9-14.8 | 3.8 |

**表 2.** 新鮮蓮霧汁之一般組成分

**Table 2.** The chemical composition of fresh wax-apple juice

| Compo sition | Moisture (%) | Crude protein (%) | Crude fat (%) | Ash (%) | Carbohy drate (%) | Titratable acidity (%) | Ascorbic acid (mg%) | Crude fiber (%) | TSS °Brix | Insoluble solid (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| content | 92.85 | 0.35 | 0.14 | 0.2 | 5.57-6.02 | 0.21- 0.24 | 4.5-5.5 | 0.79 | 7.6-8.6 | 0.30 |

## 二、不同發酵基質之細菌纖維素產量

許多研究報告顯示木質醋酸菌可以利用椰水、椰乳、蕃茄、鳳梨果皮、柑橘類及楊桃渣等等作爲發酵基質[2,4,5,7,8]生產細菌纖維素；爲使細菌纖維素產量增加，會在生長基質的碳源、氮源及pH值比例上做部分調整。爲方便農民可自行操作，本實驗以蓮霧原汁及添加葡萄糖(5%)、磷酸二氫銨(0.5%)、0.1%冰醋酸的修飾培養基爲發酵基質，並接種 10%木質醋酸菌菌元，於室溫中靜置培養，生產細菌纖維素。

由每日觀察及測量的結果顯示，隨著不同發酵時間，細菌纖維素形成，上浮至培養基的表面，發酵初期，修飾培養基中的細菌纖維素形成速度較快，在接種後三至四天，即可在培養液表面看到白色絮狀浮膜(濕重約 12.3 g/150 ml)，隨著發酵時間延長，第十五天的產量爲 47.4 g/150 ml。蓮霧原汁培養基的細菌纖維素形成較慢，在接種後五、六天後可得到濕重 11.5 g/150 ml 的細菌纖維素，收集之最終產量爲 46.5 g/150 ml(圖 1)。由細菌纖維素烘乾重的變化結果(圖 2)顯示，兩種發酵基質之細菌纖維素的生產率，差異不明顯。

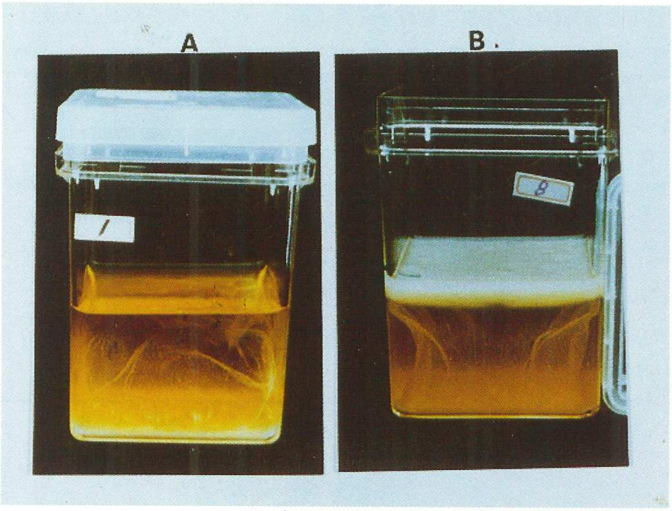


圖 1. 木質醋酸菌發酵蓮霧汁生產細菌纖維素之情形

**Fig. 1.** The bacterial cellulose produced by *A. xylinum* grown in wax-apple juice.

A. 木質醋酸菌接入蓮霧汁 2-3 天後細菌纖維素開始形成、上浮。

B. 接入木質醋酸菌 13 天後細菌纖維素生產情形。

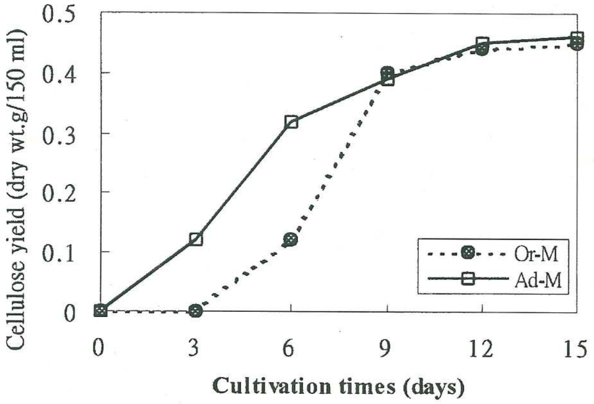


圖 2. 木質醋酸菌發酵期間細菌纖維素產量變化

**Fig. 2.** Changes of bacterial cellulose yield of *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

## 三、不同發酵液之成分變化

### ㈠酸度的變化

分析每三天取樣的發酵基質結果顯示，修飾培養基因添加 0.1%醋酸及 0.5 %磷酸二氫銨，故最初的的可滴定酸含量爲 0.63 %，蓮霧汁培養基的可滴定含量爲 0.21%，隨著發酵時間的延

長快速上升，在發酵至第九天，兩種培養基的可滴定酸含量達最高，分別增加為 1.38 %及 0.98 %，之後的變化則不顯著，上升趨勢相似 (圖 3)。外加酸類對發酵液 pH 值的影響不大，發酵終點的 pH 值，修飾培養基與蓮霧汁培養基分別為 pH 3.06 及 pH 3.18(圖 4)，修飾培養基的 pH 值比新鮮蓮霧汁的 pH 值低 1.2 左右，發酵液有明顯的酸味氣息。

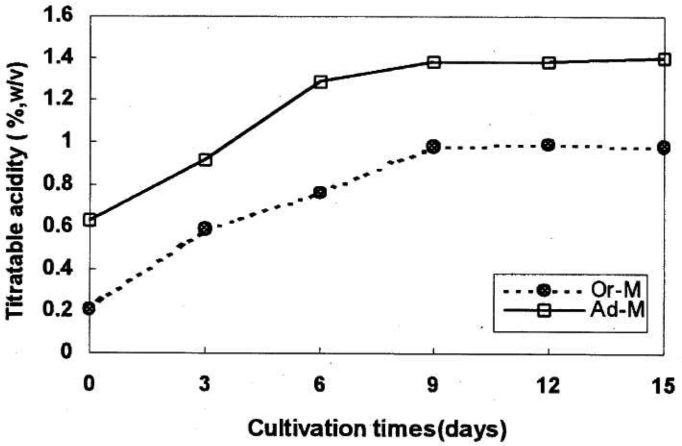


**圖 3.** 木質醋酸菌發酵期間培養基質之可滴定酸含量變化

**Fig. 3.** Changes of titratable acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

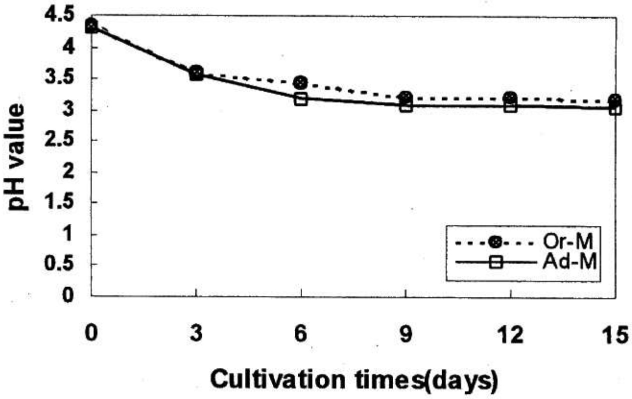


**圖 4.** 木質醋酸菌發酵期間培養基質之 pH 值變化

**Fig. 4.** Changes of pH value by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

(二)有機酸類含量變化

蓮霧汁中的有機酸類包括琥珀酸(succinic acid)、檸檬酸(citric acid)、蘋果酸(malic acid )及少量草酸(oxalic acid)。培養基經接菌發酵後，各類有機酸的變化不一，蘋果酸的變化不明顯，發酵期間的含量約爲 0.015-0.019 %(圖 5)；檸檬酸、琥珀酸、葡萄糖酸及醋酸則大都呈上升趨勢，此種情形在兩種發酵基質的變化情形相似。檸檬酸含量由 0.19 %上升爲 0.3 %左右 (圖 6)；葡萄糖酸則由最初的 0.014 %，在發酵完成後上升至 0.13 %；琥珀酸含量則由 0.84%增加爲 1.22 % (圖 7)。經接入木質醋酸菌發酵後，除了會產生二次代謝物細菌纖維素外，另一項代謝物則爲醋酸，修飾培養基的醋酸含量在第三天已達 0.57 g%，蓮霧汁培養基則在接菌後第六天醋酸含量上升爲 0.37 g%，隨著發酵時間的延長，醋酸含量明顯下降至 0.04-0.05 % (圖 8)。

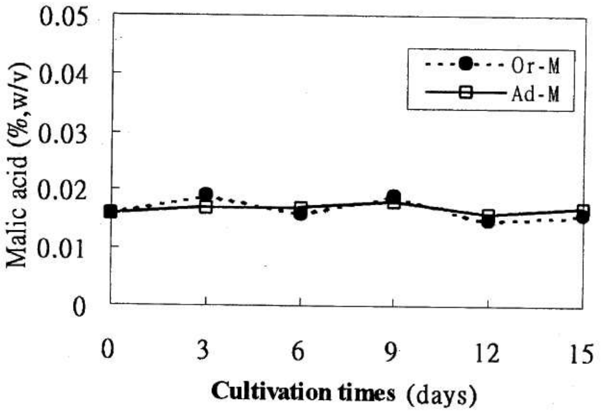


**圖 5.** 木質醋酸菌發酵期間培養基質之蘋果酸含量變化

**Fig. 5.** Changes of malic acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

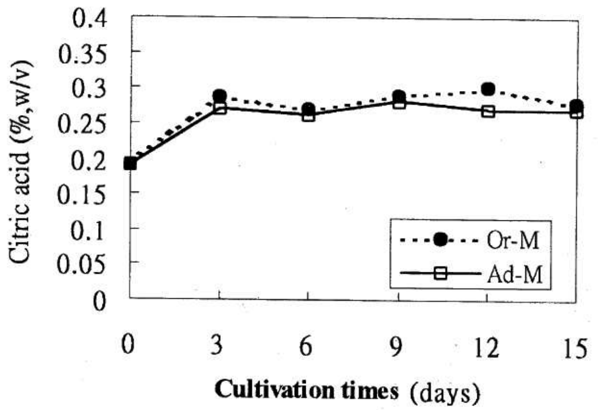


**圖 6.** 木質醋酸菌發酵期間培養基質之檸檬酸含量變化

**Fig. 6.** Changes of citric acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

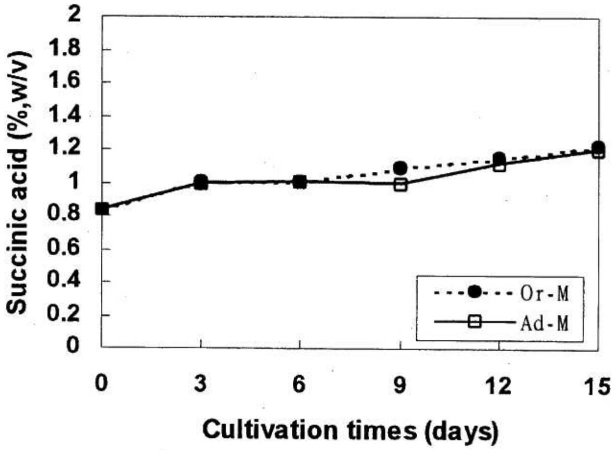


**圖 7.** 木質醋酸菌發酵期間培養基質之琥珀酸含量變化

**Fig. 7.** Changes of succinic acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.
Or-M ＝蓮霧汁培養基　Wax-apple juice
Ad-M ＝修飾培養基　Modify medium

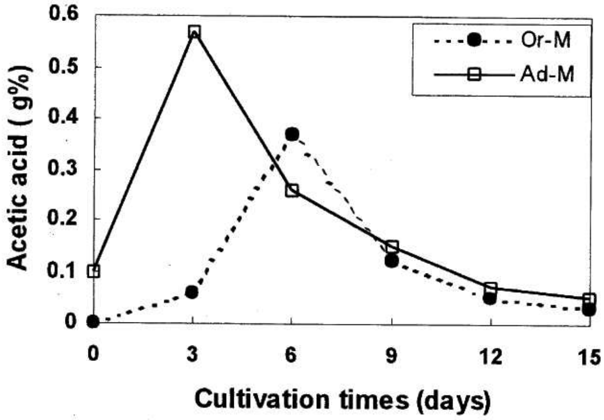


**圖 8.** 木質醋酸菌發酵期間培養基質之醋酸含量變化

**Fig. 8.** Changes of acetic acid contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.
Or-M ＝蓮霧汁培養基　Wax-apple juice
Ad-M ＝修飾培養基　Modify medium

㈢糖類含量變化及蔗糖水解率、總糖利用率及轉換率

蓮霧汁中的糖類主要爲果糖、葡萄糖及蔗糖，分析發酵蓮霧汁培養基之含量變化，糖類中的葡萄糖(2.72 %)有 0.42 g 的消耗，果糖及蔗糖則各別消耗 0.02g (圖 9)。蔗糖水解率約 6.7%，總糖利用率亦爲 7.0%，糖類轉換爲細菌纖維素的轉換率約 91.3% 。實驗結果顯示木質醋酸菌 Axy1220 在醇期間對糖類的利用率並不高，但轉換率比例頗高。

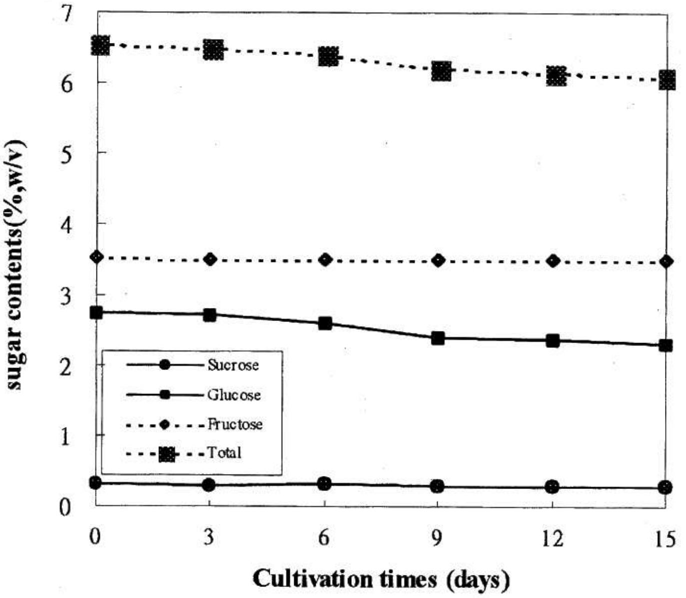


**圖 9.** 木質醋酸菌發酵期間培養基質之糖類含量變化

**Fig. 9.** Changes of sugar contents by *A. xylinum* grown in substrate during fermentation.

Or-M ＝蓮霧汁培養基 Wax-apple juice

Ad-M ＝修飾培養基 Modify medium

## 討 論

本實驗所用的木質醋酸菌 *A. xylinum* Axy1220，原爲印尼發酵椰水的菌株，經過馴化，其細菌纖維素生產仍然未達商業產能，討論其可能影響因子包括：

⑴菌種活性，生長於不同培養基質的外來菌株，需經較長時間的馴化，方能恢復其原有產能。依 Mendoza [12]之研究，在最適條件下，以木質醋酸菌發酵一公升的培養液可生產 483 g 的 nata de coco，生產率約 48%；閻和李氏[3]自紅茶菇中分離之菌株，以稀釋鳳梨皮汁爲發酵基質，部分菌株的細菌纖維素生產率可達 46-48%，本實驗所用之兩種培養基的生產率約 31%，如以國內自行由紅茶菇中選殖之木質醋酸菌菌株來發酵，對細菌纖維素的生產率可能會有較明顯的改善。

⑵pH 值，本實驗之蓮霧汁培養基中的有機酸含量變化，顯示大部分呈上升趨勢，導致 pH 值快速在第三天已下降至 pH 3.6。報告[8,10,11]顯示木質醋酸菌生產細菌纖維素的 pH 值爲 3.5-7.0 左右，而最適生長 pH 值則在 4.5-5.0 左右，當 pH 值低於 3.5 以下時，其細菌纖維素的生產可能會減少或停止[9,10]。

何氏[2]研究顯示，在 pH 値降至 pH 3.5，細菌纖維素之產量有減緩趨勢。但在閻和黃氏[4]的研究報告顯示，最適生長 pH 値範圍未必與最適合成細菌纖維素之 pH 値範圍重合。pH 値與細菌纖維素生產量之間之關係如何，有待再詳細探討。

(3)醋酸，爲木質醋酸菌在生長期間所產生之二次代謝產物，本實驗中醋酸含量隨發酵時間的延長先增而後減少。閻和黃氏[4]以楊桃渣液爲發酵基質，分析其有機酸含量變化，醋酸(添加 1%)含量則隨發酵時間延長而下降(檸檬酸及葡萄糖酸含量有上升趨勢 0.25%)。何氏[2]分析以二次萃取之晚崙西亞柳橙汁爲基質靜置培養，發酵液之醋酸含量可達 1.1%，其含量至發酵最終並無下降趨勢。醋酸爲二次代謝產物，含量減少是否意味著木質醋酸菌的生長停滯，或因菌種差異某些菌株可以將醋酸轉換成所需之物質，有關有機酸的含量變化與木質醋酸菌生產細菌纖維素的相關性如何有待更進一步探討。

實驗顯示木質醋酸菌 Axy1220 對糖類的使用情形並不高，依閻和李[3]的研究，發酵基質相同的情形下，不同木質醋酸菌菌株之蔗糖水解率、總糖利用率及細菌纖維轉換率，有明顯差異。故只以蓮霧汁本身的糖類爲木質醋酸菌 Axy1220 發酵的碳源，應是足夠的，外加過多的碳源可能並非必要。

## 引用文獻


1. 吳東和、林慶文。1994。Nata-被遺忘的機能性食品。食品工業 26(6):42-47。
2. 何佳倫。 1996。以醋酸菌發酵柑桔果汁生產細菌纖維素之研究。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
3. 閻立平、李瑞吉。1996。利用醋酸菌發酵鳳梨皮汁生產細菌性纖維素之研究. I. 產纖維素分離株之篩選及菌刼活化方式之探討。85 年度蔬果加工產品研究成果彙編 147-163 頁。
4. 閻立平、黃伶妃。1997。利用醋酸菌發酵楊桃渣生產細菌纖維素食品之研究。85 年度蔬果加工產品研究成果彙編 195-174 頁。
5. 戶田登志也、桑名好惠、桐山修八. 1994.ナタ喝デココの新機能.血中コレステロ-ル低下作用.と應用開發 食品と開發 29(8):16-21.
6. 深谷正裕、川村吉也. 1994. 酢酸菌の生產するバイオセルロ-ス . 釀協 89(7):536- 543.
7. Alaban, C. A. 1967. Studies on the optimum conditions for Nata de coco bacterium or Nata forma tion in coconut water. Phil. Agric. 45: 490-515.
8. Banzon, J.A., O. N. Gonzalez, S. Y. Dedeon, and P. C. Sanchez. 1990. Chapter XIV Nata de coco in coconut as food, Inc (PCRDF), Philippines.
9. Bio-Rad Laboratories. 1928. (bulletin) Guide to Aminex ® HPLC Columns pp.76. USA.
10. Embuscado, M. E., J. S. Marks, and J. N. Bemiller. 1994. Bacterial cellulose I. Factors affecting the production of cellulose by Acetobacter xylinum. Food-Hydrocoll 8(5):407-418.
11. Lapuz, M. M., E. G. Gallardo, and M. A. Palo. 1967. The nata organism-cultural requirements, characteristics, and identity. Philip. J. Sci. 96(2)91-109.
12. Masaoka, S., T. Ohe, and N. Sakota. 1993. Production of cellulose from glucose by Acetobacter xylinum. Journal of Fermentation and Bioengineering 75(1):18-22.
13. Mendoza, J. M. 1961. Philippine foods, their processing and manufacture. Philip. J. Sci. 96(2):91-109.
14. Okiyama, A., H. Shirae, H. Kano, and S. Yamanaka. 1992a. Bacterial cellulose I. Two-stage fermentation process for cellulose production by Acetobactr aceti. Food-Hydrocoll 6(5):471-477.
15. Okiyama, A., M. MotoKi, and S. Yamanaka. 1992b. Bacterial cellulose II. Processing of the gelatinous cellulose for food materials. Food-Hydrocoll 6(5):479-487.
16. Tsugawa, R. 1997. Application of biotechnology in Japanese food industries. Member handbook of Chinese Institute of Food Science and Technology 27th pp.106-107.
17. Yamanaka, S., K. Watanbe, and N. Kitamura. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. J. mater. Sci. 24:3141- 3145.

# Bacterial Cellulose Production with Wax-apple juice [1]

Shu-Hui Yang [2]

## Summary

Bacterial cellulose is the secondary metabolic product of *Acetobacter xylinum* fermented coconut water or fruit juice. Its extensively used as gelling or suspending agents, as protective colloids or as thickening agents in commercial jelly or ice cream. Part of this research was intended to produce bacterial cellulose by using post-pluck wax apple juice as the substrate and to study the changes of substrate components. Results showed that bacterial cellulose yield produced from wax apple juice was about 31%. Titratable acidity of fermented culture was increased from 0.21 % to 0.98 %. Organic acid included citric acid, succinic acid, and gluconic aicd contents were increased significantly except for malic acid. Acetic acid is another secondary metabolic product by *A. xylinum Axy* 1220. Along the fermentation time, acetic acid content was increased from zero to 0.37% at early step , then decreased to 0.04% at final stage. The sugar utilization rate of A. xylinum Axy1220 was low (7.0%), but the cellulose conversion rate was 91.3%.

**key words**：Wax-apple juice, Bacterial cellulose, Substrate components.

1. Contribution No. 1962 from Taiwan Agricultural Research Institute.
2. Assistant for Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI, Fengshan, Kaohsiung, Taiwan, ROC.